26.

(Mededeelingen uit het laboratorium van de oogheelkundige kliniek te Amsterdam).

MIKRO-PHOTOGRAPHIEËN IN KLEUREN,

DOOR

W. M. DE VRIES, *oogarts te Amsterdam.*

Overgedrukt uit het NEDERL. TIJDSCHRIFT VOOR GENEESKUNDE, 1908. Eerste Helft, No. 3.

(*Mededeeling uit het laboratorium van de oogheelkundige kliniek te Amsterdam*).

MIKRO-PHOTOGRAPHIEËN IN KLEUREN,

DOOR

W. M. DE VRIES, *oogarts te Amsterdam.*

(*Met een plaat*).

Toen de nieuwe photographische plaat van LUMIÈRE, de autochroomplaat, in den handel kwam, lag het voor de hand te onderzoeken, in hoeverre deze plaat ook bruikbaar zou zijn voor de mikrophotographie. Daar deze plaat toch de afbeeldingen leveren kan in de kleuren van het voorwerp, zouden dergelijke afbeeldingen, beter begrijpelijk dan de gewone photo's in wit en zwart, een aanwinst zijn voor het onderwijs, en indien het mogelijk ware, de verkregen afbeeldingen mechanisch te vermenigvuldigen, zou ook de wetenschappelijke literatuur voordeel kunnen hebben van de nieuwe methode.

Neemt men bij deze overwegingen in aanmerking, dat de wijze, waarop bij het procédé van LUMIÈRE de kleuren worden verkregen, in het bijzonder de aandacht moet trekken van hen, die zich met zien en kleurenzien bezighouden, dan is daarmede verklaard, hoe ik er toe ben gekomen, in het laboratorium van de oogheelkundige kliniek te Amsterdam, de bruikbaarheid van de autochroomplaat van LUMIÈRE voor de mikrophotographie na te gaan. In de volgende regelen wil ik in het kort bespreken, wat het resultaat van mijn onderzoek is geweest, en wat naar mijn meening van de kleurenphotographie in deze richting is te verwachten.

Daarom moet ik allereerst het procédé van LUMIÈRE kort bespreken.

Wanneer men op een gewone droge plaat een reeks van gekleurde stukken papier photographeert, dan blijkt het, dat op het negatief niet alle kleuren even donker worden weergegeven, d. w. z. dat de plaat niet even gevoelig is voor alle kleuren; de gewone photographische plaat is gevoelig voor blauw en blauw-violet, veel minder gevoelig voor groen, bijna ongevoelig voor geel en rood; heldergeel en rood, die voor ons oog zeer helder zijn, oefenen op de gewone photographische plaat maar weinig sterker invloed uit dan zwart.

Het gelukt echter, de plaat voor bepaalde kleuren gevoeliger te maken, door in de lichtgevoelige laag (de zilveremulsie) bepaalde kleurstoffen te brengen, hetzij door bij het vervaardigen van de platen in de emulsie de kleurstof te mengen (in het Duitsch „Emulsionsplatten"), hetzij door de onbelichte plaat in een oplossing van de kleurstof te brengen (te baden), te laten drogen, en daarna voor de photographie te gebruiken (Duitsch: „Badeplatten"). Zoo maakt erythrosine de plaat gevoeliger voor geelgroen, cyanine voor oranje en rood, pinachroom voor alle kleuren.

Platen, die voor een bepaalde kleur gevoeliger zijn gemaakt, noemt men kleurgevoelig, orthochromatisch, terwijl men onder panchromatische platen die verstaat, die voor alle kleuren gevoelig zijn gemaakt. Zoo is de z.g. zilvereosineplaat van PERUTZ, die door erythrosine gevoelig is gemaakt voor geelgroen, en die wij daarom bij voorkeur voor de mikrophotographie gebruiken, een orthochromatische plaat.

Panchromatische platen zijn dus gevoelig voor alle kleuren. Dit sluit evenwel niet in, dat zij *even* gevoelig zijn voor alle kleuren; integendeel, altijd blijft de panchromatische plaat naar evenredigheid te gevoelig voor blauw en blauw-violet. Wanneer wij dus een aantal gekleurde stukken papier met een panchromatische plaat photographeeren, dan zijn de blauwe tinten naar onze meening in het negatief te donker, in het positief te helder. Wanneer dit nu de eenige verkeerde eigenschap van een bepaalde panchromatische plaat is, d. w. z. wanneer alle tinten goed worden weergegeven behalve de blauwe en blauw-violette, dan hebben wij een gemakkelijk middel om deze fout te verbeteren; wij photographeeren dan, terwijl wij het blauw en blauwviolet verzwakken, door het licht, vóórdat het de gevoelige plaat treft, door een méér of minder intensief geel gekleurd glas te laten gaan, dat het blauwe en blauw-violette licht in meer of mindere mate, al naar de plaat dit mocht vereischen, verzwakt.

De autochroomplaat van LUMIÈRE bezit een dergelijke panchromatische zilveremulsie, en het is uit het voorgaande duidelijk, waarom deze plaat met een geel glaasje, een z. g. geel filter, moet worden gebruikt. De gebroeders LUMIÈRE hebben heel precies onderzocht, welke tint het glas moet hebben bij daglicht-opnamen, en hebben dit in den handel gebracht als „écran spécial".

Behalve de panchromatische lichtgevoelige zilverlaag bezit de plaat nog een andere, die aan het wit-zwarte beeld de kleuren geeft. Deze tweede laag, die zich tusschen de zilverlaag en het glas bevindt, van de eerste gescheiden door een laagje vernis, bestaat uit zeer kleine, platgedrukte, bijna zonder tusschenruimten aan elkaar sluitende, nergens elkaar bedekkende, in drie kleuren gekleurde zetmeelkorreltjes. Deze zetmeelkorreltjes, alle ongeveer even groot n. l. 10 mikron in doorsnede, zoodat er ongeveer 8000 op 1 mM^2 aanwezig zijn, zijn gedeeltelijk oranjerood, gedeeltelijk groen, gedeeltelijk blauw-violet gekleurd, en wel zijn de verschillend gekleurde korrel-

soorten in zoodanige verhouding, en zóó innig gemengd op de plaat gebracht, dat het mengsel kleurloos is, en het licht, dat door een plaat van LUMIÈRE, heen komt, dat dus uit oranjerood, groen en blauwviolet licht bestaat kleurloos is, wit of liever grijs.

Een schematische doorsnede door de plaat van LUMIÈRE zou dus vertoonen: Eerst de glasplaat, dan de korreltjeslaag, dan een laagje vernis, dan de panchromatische zilverlaag.

De plaat van LUMIÈRE wordt gebruikt met geelfilter, en steeds zoodanig, dat het licht, dat van het voorwerp uitgaat, eerst de korreltjeslaag en dan de zilverlaag treft; de plaat moet dus andersom dan de gewone droge plaat in het chassis worden gelegd, zoodat zij in de camera met den glaskant naar het objectief is gekeerd.

Hoe de plaat werkt, is gemakkelijk te begrijpen; ik onderstel, dat wij een voorwerp photographeeren, dat alleen groen licht uitstraalt; het groene licht, dat op de plaat valt, passeert de groene korreltjes zonder moeite, maar wordt bij passenden belichtingstijd, door de oranjeroode en de blauwviolette niet in voldoende hoeveelheid doorgelaten, om op de daarachter liggende zilveremulsie te kunnen werken. Bij de ontwikkeling en fixatie zal dus de zilverlaag achter de groene korrels zwart worden en achter de oranjeroode en blauwviolette korrels helder blijven. Het beeld van het groene voorwerp zal dus verschijnen in de mengkleur van oranjerood en blauwviolet d.w.z. in de complementaire kleur van groen. Hetzelfde geldt natuurlijk voor alle kleuren en mengkleuren, voor zoover die door het mengsel der drie door LUMIÈRE gekozen kleuren zijn te verkrijgen; bij ontwikkeling en daaropvolgende fixatie verkrijgt men dus het beeld in de complementaire kleuren van het voorwerp.

De behandeling van de plaat maakt echter, dat men niet de complementaire, maar de overeenkomstige kleuren van het voorwerp verkrijgt, door n.l. het bij de ontwikkeling gevormde zwarte zilverneerslag in een oplossing van hypermanganas kalicus en zwavelzuur op te lossen, en daarna het tot nu toe onveranderd gebleven zilver door een tweede ontwikkeling zwart te maken. Was dus bij het photographeeren van het groene voorwerp de zilverlaag achter de groene korrels zwart geworden, de oplossing van permanganas kalicus en zwavelzuur doet dit zwarte zilver verdwijnen, en de tweede ontwikkeling reduceert thans het nog overgeblevene zilver, dat zich achter de oranjeroode en blauwviolette korrels bevond. Daar door dit zilverneerslag de oranjeroode en blauwviolette korrels geen licht meer doorlaten, verschijnt thans het beeld in groen, de kleur van het voorwerp.

Zou men dus door ontwikkeling en fixatie het beeld in de complementaire kleuren zien ontstaan, de zgn. beeldomkeering doet het beeld in de kleuren van het voorwerp te voorschijn treden.

Bij de mikrophotographie gebruikte ik AUER-licht, dat minder rijk is aan blauw en violet dan daglicht, en dit had zooals vanzelf spreekt

een duidelijken invloed op de overeenkomst in de kleuren van voorwerp en beeld. Deze invloed laat zich het gemakkelijkst begrijpen, wanneer wij eens een oogenblik aannemen, dat in het AUER-licht blauw en violet geheel ontbrak. Het gevolg zou zijn, dat al het blauw en violet van het praeparaat, bij AUER-licht er uit zou zien als zwart, en op de plaat zou werken als zwart. Alle blauwviolette korrels zouden dan in de afgewerkte plaat door zwart zilver zijn bedekt en in de afbeelding zou al het blauw en violet, dat in het praeparaat aanwezig was, geheel ontbreken; en niet alleen in het beeld van het praeparaat zelf; ook in het beeld van het vrije veld van het microscoop zouden alle blauwviolette korrels door zwart zilver-neerslag zijn bedekt, en hèt vrije veld van het microscoop zou dus in plaats van kleurloos, in de mengkleur van oranjerood en groen, in het geel, zijn getint.

In AUER-licht nu ontbreekt het blauw en violet wel niet, maar het is er toch in geringer hoeveelheid dan in het daglicht, vandaar, dat in de afbeelding bij AUER-licht gemaakt, dus in de microphoto, zoowel het praeparaat als het vrije veld van het microscoop te weinig blauw en violet zullen bevatten, te geel zullen zijn, en de kleuren dus niet zullen overeenstemmen met die van het praeparaat.

Laat men nu echter bij de opname *het geelfilter weg*, dan wordt de hoeveelheid licht van korte golflengte, die in het gasgloeilicht aanwezig is, *niet* verzwakt, en komt dus ten volle tot werking. In dat geval echter wordt zoowel het beeld van het praeparaat als van het vrije veld van het microscoop te blauw; de afbeelding is dan in haar geheel naar het blauw verplaatst, terwijl zij bij gebruik van het geelfilter naar het geel is getransponeerd, vergeleken met het praeparaat.

Evenals nu de gebroeders LUMIÈRE een „écran spécial" voor daglicht hebben uitgezocht, zou men voor gasgloeilicht een ander „écran spécial" moeten zoeken, dat wat meer licht van korte golflengte doorlaat. Voor elk kunstlicht, dat in de microphotographie gebruikt wordt, voor petroleumlicht, voor de NERNST-lamp, voor electrisch booglicht, zou men een ander filter moeten zoeken.

BENDA 1), die met een toelage van ZEISS de bruikbaarheid der autochroomplaten voor de mikrophotographie onderzocht, vond voor zijn booglamp een passend filter in een dunne oplossing van „Lichtgrün" met toevoeging van een weinig pikrinezuur.

Ik heb de oplossing van deze moeilijkheid gezocht in gemengde belichting. Wanneer de kleur *met* het filter te geel, *zonder* filter te blauw wordt, dan zouden misschien de kleuren ongeveer juist kunnen worden, wanneer gedurende *een deel* van den belichtingstijd het filter werd weggelaten. Het bleek toen, dat bij een belichting van:

---

1) C. BENDA, Das LUMIÈRE'sche Verfahren des Farbenphotographie im Dienste der Medizin, *Deutsche med. Wochenschrift* 1907, n°, 48.

4 tijdseenheden met en 8 zonder filter de kleur véél te blauw was.
4 „ „ „ 2 „ „ „ „ nog „ „ „
4 „ „ „ 1 „ „ „ „ ongeveer goed was.

Het gemakkelijkst is dit te beoordeelen aan de kleurloosheid van het vrije veld van het microscoop.

Mijn manier heeft eenige fouten, die men met het gebruik van een filter gedurende den geheelen belichtingstijd ontgaat. Vooreerst is het mogelijk, dat het beeld met filter en het beeld zonder filter niet tegelijk op hun scherpst zijn; deze fout heb ik zoo goed mogelijk vermeden, door het filter tusschen de lichtbron en het voorwerp te plaatsen. Verder laat men bij het weglaten van het filter niet alleen het blauw en violet, maar ook het ultraviolet tot werking komen, waarvoor de photographische plaat zeer gevoelig is. En afgezien hiervan zou de methode alleen juist zijn, wanneer het *eenige* verschil tusschen daglicht en AUER-licht gelegen was in een geringe gehalte aan blauw en violet van het AUER-licht. Praktisch is echter het resultaat zeer bevredigend.

De andere manier, het zoeken van een bepaald filter voor een bepaalde lichtbron, is natuurlijk beter, maar zij kost veel meer platen, wat bij de duurte van de platen niet weinig gewicht in de schaal legt. BENDA geeft geen cijfers van de samenstelling van het filter, dat voor zijn booglamp paste.

Op deze wijze heb ik bruikbare mikrophotographieën gekregen bij een vergrooting van 11 tot 200-maal. Een groot bezwaar (dat echter door het gebruik van een booglamp wordt opgeheven) is de groote ongevoeligheid van de plaat voor licht. Een opname bij een vergrooting van 11-maal kostte ongeveer 7 minuten belichtingstijd (bij een gewone mikrophoto op een plaat van PERUTZ ongeveer 20 sec.); bij een vergrooting van 96-maal ongeveer 25 minuten (PERUTZ-plaat ongeveer 2 minuten); bij een vergrooting van 1000-maal bleek 10 uur nog niet voldoende te zijn. Voor sterke vergrootingen is het dus volstrekt noodig een booglamp te gebruiken.

Men went er wel aan, dat de plaat door de groote broosheid van de zilverlaag zéér voorzichtig moet worden behandeld.

Een gewichtiger bezwaar tegen het gebruik van de autochroomplaat in de mikrophotographie, waar het niet alleen op kleuren, maar ook zeer bepaald op den vorm, en op duidelijkheid van lijn aankomt, ligt in den bouw van de plaat. De fijnheid van teekening, die bij de gewone mikrophotographieën gegeven wordt door de fijnheid van korrel van het zilverneerslag, wordt bij de autochroomplaat niet bepaald door den zilverkorrel, maar door den kleurkorrel, of eigenlijk door groepen van gekleurde zetmeelkorrels; om een groen veld te begrenzen tegen een wit veld, is noodig, dat op het witte veld alle korrels onbedekt zijn, terwijl op het groene veld de oranjeroode en blauwviolette korrels door zwartzilver zijn bedekt; de grenslijn zou dus theoretisch worden gevormd door een stippellijn van groene

korrels, telkens van elkaar gescheiden door twee zwarte, wanneer men aanneemt, wat niet geheel juist is, dat er van elke korrelsoort even veel zijn. (De verhouding is 4 : 3 : 3). De scherpte van de grenslijn moet dus noodzakelijk geringer zijn dan bij een gewone opname. De kleurkorrel is echter klein genoeg, om deze geringere scherpte niet hinderlijk te doen zijn.

Verder wordt een dergelijke grenslijn niet door één laag gevormd, maar eigenlijk door drie, nl. door de zilverlaag, de korreltjeslaag en de daartusschen gelegen vernislaag. Hoe dikker de vernislaag is, hoe verder de korreltjes en de zilverlaag van elkaar zijn, des te slechter zal de photo zijn in dien zin, dat bij een weinig scheefhouden van de plaat de zilverlaag zich optisch tegenover de korreltjeslaag verschuift, zoodat zelfs het beeld wat in tint kan veranderen.

Uit dit laatste volgt dus wel, dat, hoe fijner de gekleurde korrels zijn, hoe inniger en regelmatiger zij gemengd zijn, en hoe dunner de vernislaag is tusschen zilverlaag en korreltjeslaag, des te beter de autochroomplaat te gebruiken is voor de mikrophotographie. De firma LUMIÈRE zal zeker niet nalaten in deze richting de autochroomplaat te verbeteren.

Het spreekt vanzelf, dat men zich afvraagt, of voor de medische wetenschap de kleurenphotographie iets meer is dan een spelletje, een aardigheid, en wanneer men nog geneigd is eenige waarde aan het procédé toe te kennen voor het maken van afbeeldingen van huidaandoeningen, en van versche pathologisch-anatomische praeparaten, wat mag men er dan van verwachten voor de mikrophotographie.

De wijze van behandeling der platen brengt mede, dat het alle unica zijn, diapositieven, die niet voor vermenigvuldiging door contactdruk geschikt zijn. De mikrophoto's zelf hebben dus alleen waarde voor het onderwijs, omdat zij zooveel begrijpelijker zijn, dan de witte en zwarte lantaarnplaatjes, en bovendien voor enkele bijzondere dingen, bijv. voor het vastleggen van bijzonder duidelijke, maar niet stabiele kleuringen.

De zaak wordt echter anders, wanneer het gelukt mechanisch een groot aantal reproducties te maken van de autochroomopnamen. En dat gelukt inderdaad; aan de eerste uitvoerige beschrijving van het procédé van LUMIÈRE in de *Illustration* van Juni 1907 waren eenige driekleuren-drukken toegevoegd, vervaardigd naar autochroomopnamen. Door middel van den driekleurendruk kan men dus de kleurenmikrophoto in boek of tijdschrift reproduceeren, en dat beteekent een vooruitgang in de illustreering ook van de medische literatuur; de methode maakt het mogelijk, afbeeldingen te geven, niet alleen nauwkeurig in de maatverhoudingen, en in het aantal elementen, maar ook in kleur. Twee van dergelijke driekleurendrukken, naar mijn photographieën door de chemigraphische kunstinrichting „Polygraph" te Haarlem op dezelfde grootte vervaardigd, zijn aan dit artikel toegevoegd. De eerste afbeelding stelt voor een degeneratiehaard in

den nervus opticus, tengevolge van een in de afbeelding niet zichtbaar sarcoma chorioideae; het praeparaat was gekleurd met de door WEIGERT gewijzigde methode van VAN GIESON (ijzerhaematoxyline, zuurfuchsine, pikrinezuur). Links is de retina door de harding losgelaten, rechts ligt gestold exsudaat tusschen retina en chorioidea. De tweede afbeelding stelt voor atrophia n. optici na papillitis, tengevolge van een endotheliom van de arachnoideaalscheede van den n. opticus, dat de scheede ruimte heeft doen uitzetten en de zenuw heeft doen atrophieeren.

Beide opnamen zijn bij een vergrooting van 11-maal gemaakt met een mikroplanaar van ZEISS. Belichtingstijd was 3½ minuut mèt en 1 minuut zonder geelfilter.

De voor- en nadeelen van het procédé zijn aan de afbeeldingen duidelijk te zien. Zij zijn *veel begrijpelijker* dan die in wit en zwart; het sprekendst is dat te zien aan de bindweefselschotten in den nervus opticus. Zij verdragen echter niet met een zwak vergrootglas te worden bekeken, wat een goede reproductie van een gewone mikrophoto wel verdraagt. De photograaf moet dus zorgen, dat de details, die hij met de afbeelding wil vertoonen, met het bloote oog zichtbaar zijn, en geen vergrooting behoeven, en moet daarmede dus met zijn opname, d.w. z. met de keuze van objectief, oculair en balglengte rekening houden. Vergelijkt men in dit geval de reproducties met het oorspronkelijke, dan zijn zij zeer goed geslaagd, maar missen natuurlijk het levendige, het schitterende, dat altijd diapositieven kenmerkt tegenover afdrukken op papier.

Er rest mij nog met een enkel woord te noemen, wat mij bekend is van analoog werk. Het stuk van BENDA heb ik reeds genoemd; overigens is mij van het gebruik van het procédé van LUMIÈRE voor de mikrophotographie nog niets bekend geworden. Het procédé van JOLLY, die niet met een korreltjes-kleurraster, maar met een lijnraster werkte, is volgens NEUHAUSS niet geschikt voor de mikrophotographie, omdat het raster te grof is.

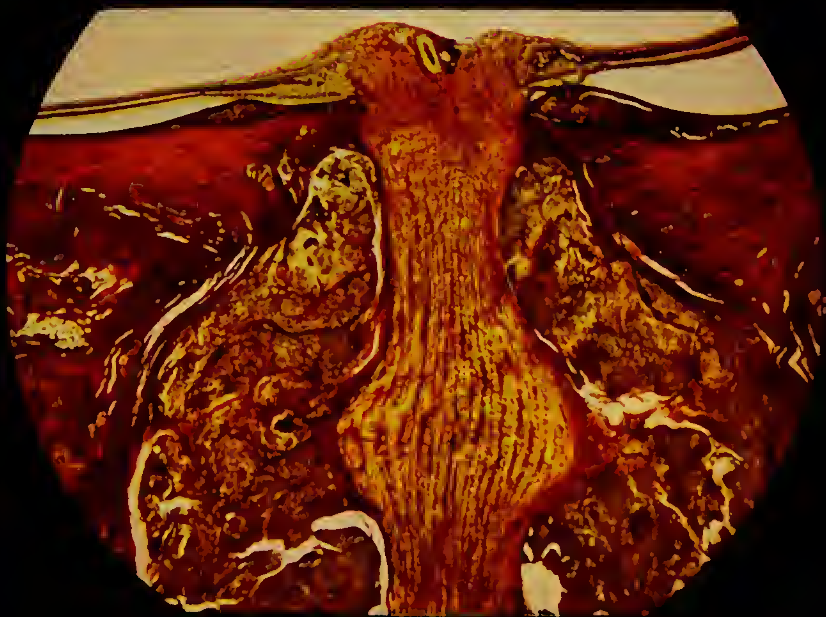
Het procédé van LIPPMANN, waarbij de kleuren door interferentie ontstaan, en dat beelden levert, die niet voor reproductie geschikt zijn, is éénmaal door NEUHAUSS 1) en verder in den allerlaatsten tijd door CAJAL 2) in Madrid aangewend, en met goed resultaat.

1) R. NEUHAUSS, *Lehrbuch der Mikrophotographie.*

2) S. R. CAJAL, Chromomicrophotographie par la méthode interférentielle, *La photographie des couleurs*, Juli—Aug. 1907,

(Overgedrukt uit het *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1908, Eerste Helft, n°. 3).





W. M. DE VRIES, Microphotographiën in kleuren.